

## 金魚及びにじますのカロチノイド色素に関する研究

著者	秦 正弘
号	80
発行年	1972
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10097/12631">http://hdl.handle.net/10097/12631</a>

氏 名 (本籍) はた 秦 まさ 正 ひろ 弘 (福島県)

学 位 の 種 類 農 学 博 士

学 位 記 番 号 農 第 8 0 号

学位授与年月日 昭 和 4 8 年 3 月 8 日

学位授与の要件 学位規則第 5 条第 2 項該当

最 終 学 歴 昭和 3 7 年 3 月  
東北大学農学部卒業

学位論文題目 金魚及びにじますのカロチノイド色素  
に関する研究

(主 査)  
論文審査委員 教授 土 屋 靖 彦 教 授 山 下 恭 平  
助教授 秦 満 夫

## 論文内容要旨

魚類のカロチノイドは主としてxanthophyll類 (lutein, zeaxanthin 等), astaxanthin, その他のカロチノイドである。特にケトカロチノイドのastaxanthinは赤色を呈し、いわゆる赤物と称される魚類の体表及びさけ・ます類の肉の主要な色素をなしている。またastaxanthinを多量に含む魚類には養殖上重要なものが多く、その体色が商品価値に影響を与えていることもあって、実際面からも魚類のカロチノイドの内でも最も注目されている。

カロチノイドは動物体内では生合成されない。カロチノイドによる体色は従って摂取するカロチノイドの種類と量及び生体内の代謝特異性によって決定されるので、体色の問題を解決するためには魚のカロチノイド代謝を明らかにすることが必要である。しかしながら、それ等についての詳細な研究がなく、大部分は現在まで不明である。しかしastaxanthinの起源については魚によって特異性がみられ、従来の知見から1) 生体内で生成することができる魚種、2) 生体内で生成することができない魚種に大別される。

本研究においては前者に属すると考えられる金魚、後者に属すると考えられるにじますについてastaxanthin生成過程を中心とするカロチノイド代謝を追求したところ金魚はzeaxanthin,  $\beta$ -caroteneよりastaxanthinを生成する能力を有しているが、にじますにはその能力がないこと、カロチノイド組成と代謝には組織特異性が存在すること、金魚のカロチノイド組成は成長の段階によって異なること等を明らかにした。以下にその概略を記す。

### I 金魚のカロチノイドの代謝

#### I-a 体内分布と組成

カロチノイドは体表に量も多く、次に肝臓に多かった。成熟期の卵巣にも多く存在していた。存在型は体表はエステル型、他の組織は遊離型であった。卵巣にはカロチノプロテインも存在していた(表1)。

各組織のカロチノイドを珪酸カラムクロマトグラフィー、シリカゲルTLC, MgO TLCによって分離し、吸収スペクトル、還元反応、アセチル化反応、メチル化反応、濃塩酸反応等によって同定した。

体表カロチノイドのうち10%エーテル・石油エーテルで溶出される区分は化学的性質から、4-keto lutein (doradexanthin) と同定された。canthaxanthin, phoenicoxanthinも今回初めて金魚にも存在することが見いだされた。

カロチノイド組成にも組織特異性が存在し体表にはastaxanthin, doradexanthin等のケトカロチノイドが多いが、その他の組織には卵巣を除いてケトカロチノイドは存在していない(表2)。

### I - b Cynthiaxanthin の投与実験

カロチノイドの組成から astaxanthin への代謝経路を想定し、前駆物質として  $\beta$ -carotene, zeaxanthin, lutein を仮定した。cynthiaxanthin はイソプレレン鎖に三重結合をもつ zeaxanthin analogue であり、zeaxanthin と同様に代謝されることが考えられたのでホヤより調製し、金魚に投与したところ、30 日後にはピンクがかった赤色に着色することが認められた。体表カロチノイドを珪酸カラムクロマトグラフィーで分離したところ、2 種の新カロチノイドが得られた。これ等のカロチノイドは化学的性質及び赤外線吸収スペクトルから cynthiaxanthin から転換した 4-keto cynthiaxanthin, 4,4'-diketocynthiaxanthin と同定された。cynthiaxanthin 投与魚の体表及び卵巣のカロチノイド組成は表 2 の組成と似ており、zeaxanthin が astaxanthin へ転換され得ることが推定された(表 3)。

### I - c 種々のカロチノイドの代謝

Zeaxanthin の astaxanthin への転換の可能性が確かめられたので、 $^{14}\text{C}$ - $\beta$ -carotene,  $^{14}\text{C}$ -zeaxanthin,  $^{14}\text{C}$ -lutein echinenone, canthaxanthin, astaxanthin を 30 日間投与し、体表の着色とカロチノイド組成を調べた。着色は zeaxanthin, lutein, astaxanthin 投与魚にのみはっきりと認められた。カロチノイド組成を表 4 に示した。放射能の astaxanthin へのとりこみは  $\beta$ -carotene, zeaxanthin 投与魚に認められたが、lutein 投与魚では認められなかった。echinenone 投与魚では echinenone の蓄積は見られず、canthaxanthin のみが見いだされた。echinenone, canthaxanthin 投与魚では astaxanthin の蓄積の増加は認められなかった。以上の結果は  $\beta$ -carotene, zeaxanthin のみが astaxanthin へ転換されることが、 $\beta$ -carotene はわずかしかな転換されないが zeaxanthin はよく転換されることが、lutein は doradexanthin にまで転換されるが astaxanthin へは転換されないことを示している。echinenone は canthaxanthin へ転換されるが、canthaxanthin から astaxanthin への転換ははっきりしない。蓄積率はカロチノイドによって大きな差があり、選択吸収蓄積の存在することを示している。放射能の分布、カロチノイド組成から推定されたカロチノイド代謝経路を図 1 に示した。

### I - d Zeaxanthin の astaxanthin への転換

$^{14}\text{C}$ -zeaxanthin を投与し、各組織における放射能の分布、及び体表カロチノイドの各フラクションの放射能の分布を経時的に調べた。投与後 6 時間後には体表、肝臓及び腸に放射能が見られ、約 3 ~ 4 日後には体表、腸は最大値に達したが、肝臓は 6 時間後より減少を示し、約 24 時間後には安定し、以後同じレベルを保った(図 2)。

体表におけるカロチノイドの各フラクションの放射能は 12 時間後から 24 時間後にかけて急

激に増えたが astaxanthin 区を除いてその後しだいに減少した。最大値に達した時間は zeaxanthin 区 24～30 時間後、4-ketozeaxanthin 区 48 時間後、astaxanthin 区は約 7 日後であった（図 3）。腸、肝臓のアセトン抽出物のオートラジオグラムは、これ等の組織にはエステル型カロチノイドは存在せず、放射能の大部分は遊離型カロチノイドに由来することを示した。以上の結果から、zeaxanthin は体表においてエステル化され、且 astaxanthin へ転換されることが推定された（図 4）。

#### I-e 成長と体色変化

金魚は成長のある段階に達すると体色に変化するが、この現象は melanophore が崩壊し、メラニン顆粒が体外に排出される現象であることが認められた。体色変化前、中、後のカロチノイド組成を調べたところ、ケトカロチノイドは体色変化前には存在せず、体色変化の進行とともに生成されることが認められた（表 5）。

#### I-f ACTH と phenylthiourea の体色変化におよぼす影響

体色変化はホルモンによって調節されていると想像されたのでメラニン生成に関与する ACTH、成長に関与する甲状腺の体色変化におよぼす影響を調べた。

ACTH を腹腔注射した際、体色の黒化が認められたが、体色変化は進行し、カロチノイドの代謝にも影響はみられなかった。抗甲状腺剤 phenylthiourea を作用させた時体色変化は進行したが、カロチノイド代謝は大きな影響を受け、特に 4-ketozeaxanthin より astaxanthin への反応系が阻害された（表 6）。

以上の結果から melanophore の崩壊とカロチノイドのケト化には直接関係がないこと、体色変化は ACTH、甲状腺によって直接調節されていないこと、zeaxanthin から astaxanthin への反応は 2 段階あり、それ等に関与する酵素は互に異なっていることが推定された。

## II にじますカロチノイドの代謝

#### II-a カロチノイドの分布と組成

ペレットのみで飼育した色の淡い魚といさを投与し着色したものを比較した（表 7、8）。ペレット投与魚は大部分が体表に存在し、筋肉には少ししか存在していなかった。着色した魚は筋肉に多量に存在し、体表と同じ位存在していた。存在型は体表はエステル型、その他の組織は遊離型であった。

体表カロチノイドはペレット投与魚は lutein zeaxanthin が多く astaxanthin は少なかったが、着色した魚は astaxanthin が最も多く、その他 lutein zeaxanthin が多かった。筋肉カロチノイドは体表カロチノイドと似た傾向を示しているが、着色した魚では、asta-

xanthin の存在割合が増えていた。

## II-b カロチノイドの代謝

$^{14}\text{C}$ - $\beta$ -carotene,  $^{14}\text{C}$ -lutein,  $^{14}\text{C}$ -zeaxanthin を投与しカロチノイドの代謝をみたところ, astaxanthin への放射能のとりこみはまったく認められず, にじますはこれ等のカロチノイドを astaxanthin へ転換する能力のないことが確められた(表9)。lutein, zeaxanthin はほぼ同じ様に代謝され, 体表へ蓄積されることが認められた。 $\beta$ -carotene の場合は放射能は大部分消化器(幽門垂を含む)にとどまっていることが確められたが, カロチノイドがそれを十分に説明し得るほど存在していないので,  $\beta$ -carotene の多くはカロチノイド以外の物質に代謝されたことが推定された。にじますカロチノイドの代謝を図5に示した。

## III 要 約

- 1) 金魚とにじますのカロチノイドの存在型は体表はエステル型その他の組織は遊離型である。
- 2) カロチノイドの組成には組織特異性があり, ケトカロチノイドは金魚では体表, 卵巣にのみ存在しているが, にじますでは筋肉にも多量に存在している。
- 3) 金魚体表にケトカロチノイド doradexanthin が多量に存在している。このカロチノイドは lutein より生成されるが astaxanthin へは転換されない。
- 4) 金魚はカロチノイドをケト化する能力を有し,  $\beta$ -carotene, zeaxanthin を astaxanthin へ転換する。ケト化反応は体表でエステルの型で行なわれると考えられる。しかしにじますはこの能力を有していない。
- 5) 金魚のカロチノイド組成は成長によって異なる。ケトカロチノイドは体色変化が始まると同時に生成されるが, この反応は ACTH, phenylthiourea によっては影響されない, ただし phenylthiourea は 4-ketozeaxanthin から astaxanthin への応用系を特異的に阻害する。  
反系

第1表 金魚カロチノイドの分布と存在型

組 織	カロチノイド量		存 存 型
	実験 I *	実験 II ***	
体 表	7,267 $\mu$ g	5,000 $\mu$ g	エステル
筋 肉	13	25	遊 離
肝 脾 臓	120	75	遊 離
卵 巣	1,975 **	—	遊 離 ****

\* 10尾合計 体重32-69g, 体長9.1-11.7 cm

\*\* 10尾中3尾合計

\*\*\* 15尾合計 平均体重26.9g, 平均体長9.1 cm

\*\*\*\* カロチノプロテインも存在する

第2表 金魚各組織のカロチノイド組成

カロチノイド	体 表	肝脾臓	卵 巣
$\beta$ -carotene	— (%)	20.6 (%)	痕 跡 (%)
Lutein	} 5.8	17.4	15.8
Zeaxanthin		32.1	64.6
4-keto-4-hydroxy- $\beta$ -carotene	—	—	1.6
Phoenicoxanthin	5.1	—	—
Doradexanthin	41.2	—	—
Astaxanthin	45.4	—	4.8
Canthaxanthin	—	—	4.0
そ の 他	2.5	29.8	10.5

第3表 Cynthiaxanthin 投与金魚のカロチノイド組成

カロチノイド	体 表	卵 巣
Cynthiaxanthin	22.6 (%)	66.4 (%)
4-keto cynthiaxanthin	39.0	—
4,4'-diketo cynthiaxanthin	33.0	17.0
そ の 他	5.4	16.6

第4表 各種カロチノイド投与魚の体表のカロチノイド組成及び放射能

カロチノイド	対 照	$^{14}\text{C}$ - $\beta$ -carotene	Echinenone	Canthaxanthin
$\beta$ -carotene 区	— (%)	— (%) — dpm	— (%)	— (%)
Xanthophyll ester 区	24.1	16.2 7	10.4	7.9
4-keto-3,3'-dihydroxy carotene ester 区	32.6	41.7 12(0)**	33.0	26.4
Astaxanthin ester 区	38.1	32.7 14(3)	38.9	36.3
そ の 他	5.2	9.3 28	17.7	29.1
蓄 積 率* (%)		痕跡(0.05)	0.03	0.06

\* ( ) 放射能収率 \*\* ( ) けん化後の測定値

カロチノイド	$^{14}\text{C}$ -zeaxanthin	Astaxanthin	Lutein	
			実験 I	実験 II
$\beta$ -carotene 区	— (%) — dpm	— (%)	— (%) — dpm	— (%) — dpm
Xanthophyll ester 区	11.5 2,360(472)	4.2	24.3 2,840(1,571)	24.9 804
4-keto-3,3'-dihydroxy carotene ester 区	16.4 3,190(273)	12.7	60.5 7,270(3,300)	64.7 2,526
Astaxanthin ester 区	66.2 17,800(4,799)	78.7	2.1 (0)	2.8 214
そ の 他	5.9 2,090	4.4	13.1 1,260	7.4 332
蓄 積 率 (%)	1.7(1.4)	0.7	7.7(8.8)	(3.3)



第5表 体色変化と体表のカロチノイド組成

カロチノイド	変化前	変化中	変化後
$\beta$ -carotene	+	—	—
Xanthophyll ester I	77.8	49.1	11.1
Xanthophyll ester II	+	6.5	6.6
Doradexanthin ester	—	37.8	43.4
Astaxanthin ester	—	6.5	31.9
Free carotenoids	7.3	+	6.6
Unknown	14.9	?	?

第6表 ACTH及び phenylthiourea 処理が金魚体表  
のカロチノイド組成へ及ぼす影響

	対 称	ACTH**	Phenylthiourea***
Xanthophyll ester	22.8 %	14.4 %	46.5 %
Monoketo dihydroxy carotene ester	34.6	30.2	37.0
Diketo dihydroxy carotene ester	39.9	44.1	15.1
そ の 他	2.7	11.3	1.4
蓄 積 率 *	100	75	56

\* 対照群を100とあらわした。

\*\* 注射量 9IU 1尾

\*\*\* phenylthiourea (1/10,000) 水溶液で24日間飼育

第7表 にじますカロチノイドの分布と存在型

	カロチノイド量		
	ペレット*	着色**	存在型
体 表	1,263 $\mu$ g	701 $\mu$ g	エステル
筋 肉	195	570	遊 離
肝 臓	痕 跡	痕 跡	遊 離
消 化 管***	痕 跡	—	遊 離
卵 巢	7	—	遊 離

\* ペレットのみで飼育し、色の淡い魚体

5尾合計, 310—480g, 27.5—31cm

\*\* いさざ投与, 着色した魚体, 1尾 536g, 30 cm

\*\*\* 幽門垂を含む

第8表 にじますの体表及び筋肉のカロチノイド組成

	ペレット		着色	
	体 表	筋 肉	体 表	筋 肉
Lutein	58.2 %	73.9 %	24.7 %	27.7 %
Zeaxanthin	15.6	26.1	12.3	18.9
Astaxanthin	0.5	痕 跡	32.5	42.3
Canthaxanthin	2.3	—	—	3.1
Cynthiaxanthin ?	—	—	14.1	4.5
そ の 他	23.2	—	16.4	3.4

第9表 にじますに  $^{14}\text{C}$  標識カロチノイドを投与した時の放射能分布

	$^{14}\text{C}$ -zeaxanthin		$^{14}\text{C}$ -lutein		$^{14}\text{C}$ - $\beta$ -carotene	
	48 hr	10 日	48 hr	48 hr	48 hr	10 日
体 表	dpm 626 % 42.8	dpm 1,158 % 73.8	dpm 150 % 31.3	dpm 970 % 5.6	dpm 354 % 5.8	
筋 肉	375 25.6	215 13.7	71 14.8	348 2.0	270 4.4	
肝 臓	33 2.3	46 2.9	78 16.2	1,280 7.4	872 14.3	
消 化 管*	428 29.3	150 9.6	180 37.6	14,810 85.1	4,616 75.5	
合 計	1,462	1,569	479	17,408	6,112	
蓄 積 率(%)	3.3	2.3-2.8	2.5	6.0	4.2	
Astaxanthin	—	—	—	—	—	
へのとこみ						
尾 数	2	2	2	2	1	

\* 幽門垂を含む

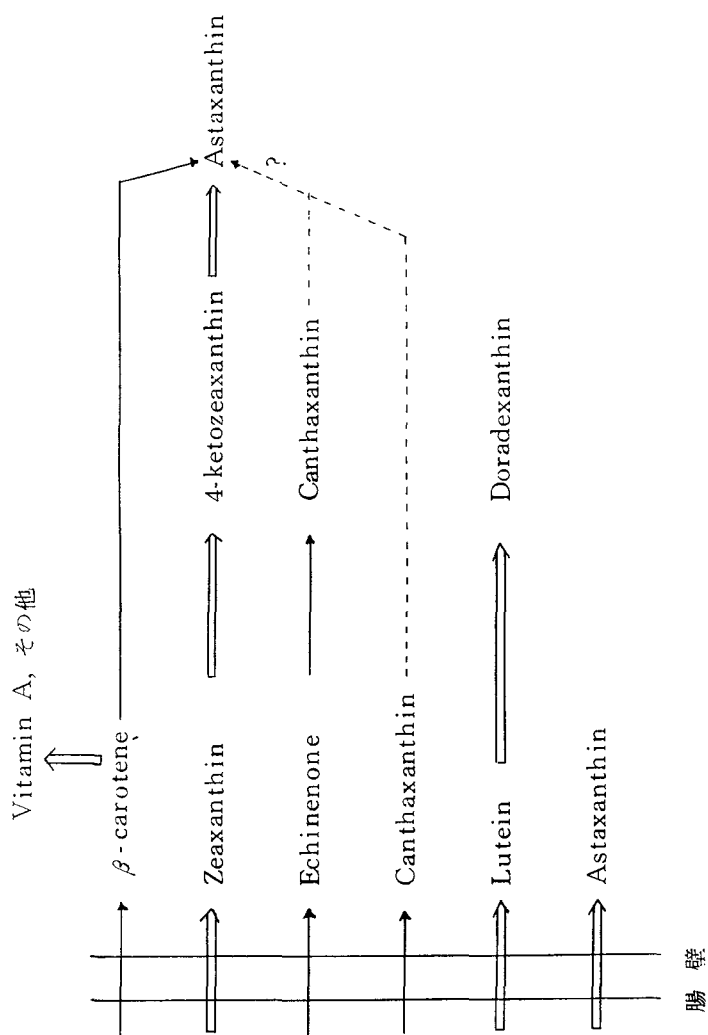


図1 金魚におけるカロチノイドの代謝

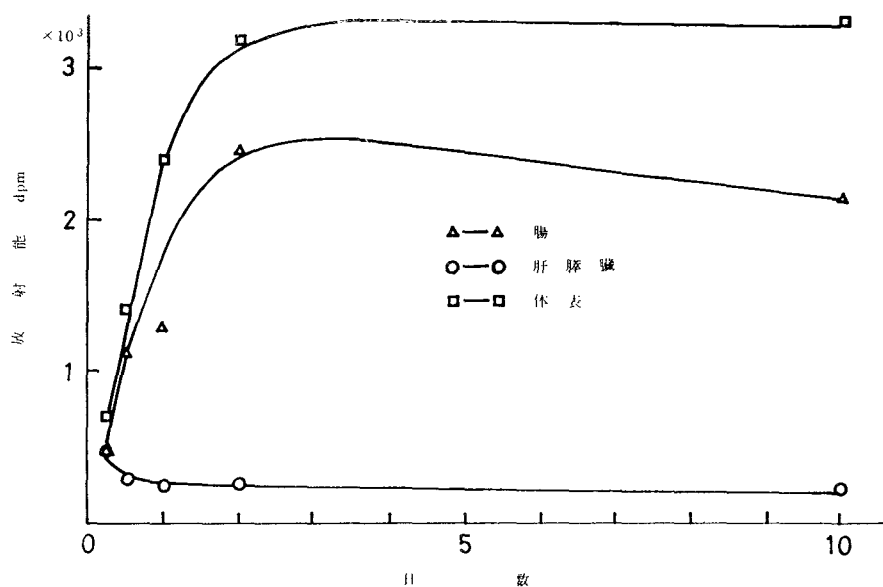


図2  $^{14}\text{C}$ -zeaxanthin を投与した金魚の各組織の放射能の変化

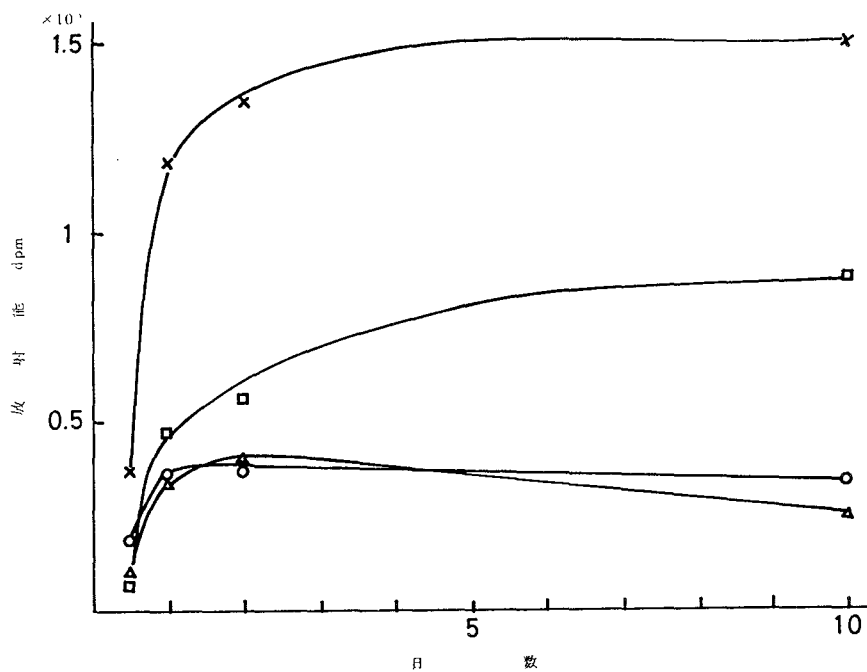


図3  $^{14}\text{C}$ -zeaxanthin を投与した金魚の体表における放射能の変化

○—○ Fr.1 (Zeaxanthin ester 区), △—△ Fr.2 (4-ketozeaxanthin ester 区)  
 □—□ Fr.3 (Astaxanthin ester 区), ×—× Fr.1+Fr.2+Fr.3

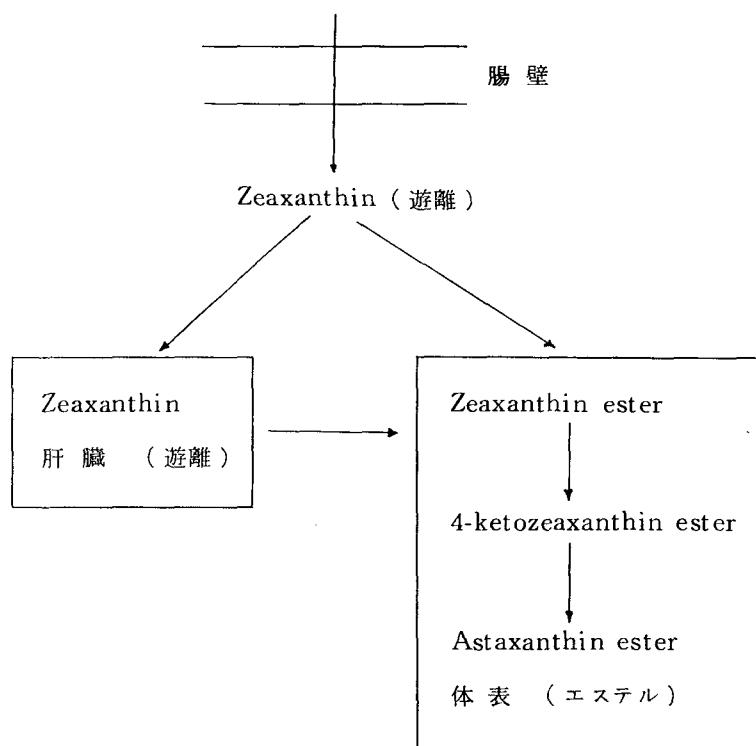


図4 金魚における Zeaxanthin から Astaxanthin への転換

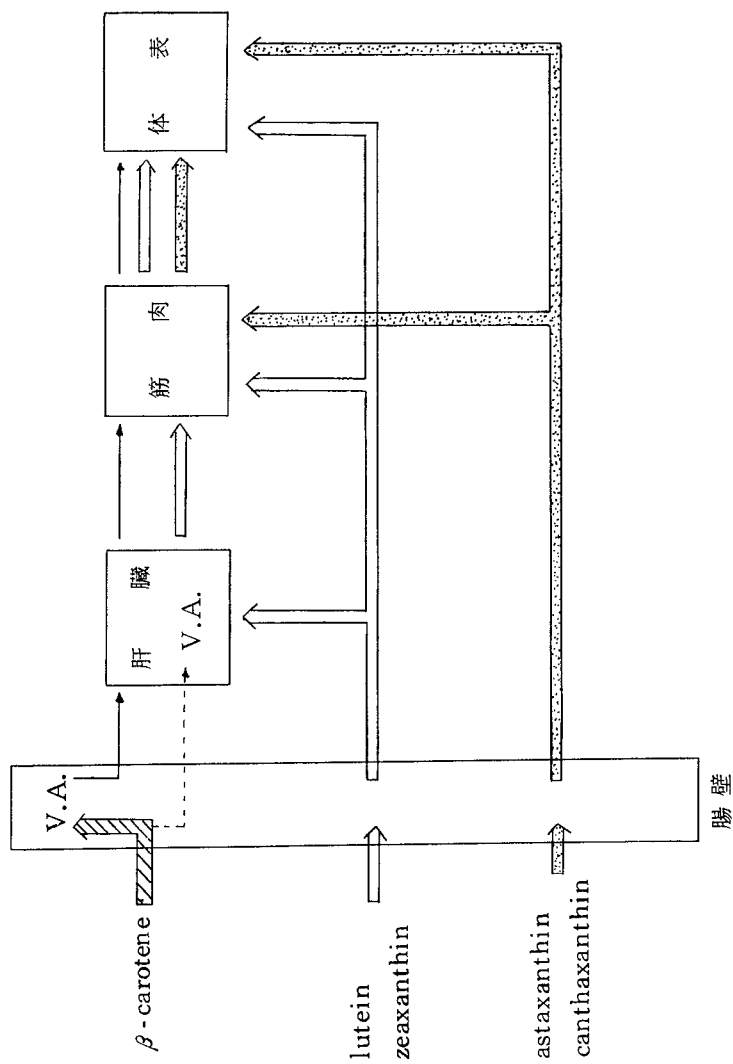


図5 にじますにおけるカロチノイドの代謝

## 審 査 結 果 の 要 旨

魚類はカロチノイドを合成しないから食餌性カロチノイドの種類と量および生体内の代謝特異性によってそれぞれの体色または肉色を作る。著者は魚類に最も普通に見られるアスタキサンチンの生成過程を中心とするカロチノイドの代謝を金魚およびにじますについて研究した。

### 1. 金魚のカロチノイドの代謝

カロチノイドは体表に最も多く、次で肝臓に蓄積される。体表はエステル型で他の組織は遊離型である。但し卵にはカロチノプロテインも少量存在する。それらのカロチノイドの種類は体表ではアスタキサンチン、ゼアキサンチン、ドラデキサンチン、フェニコキサンチンなどであり、肝臓では $\beta$ -カロチン、ゼアキサンチンおよびルテインが主で、そこに組織特異性のあることが見出された。

金魚にシンチアキサンチン、 $^{14}\text{C}$ - $\beta$ -カロチン、 $^{14}\text{C}$ -ゼアキサンチン、 $^{14}\text{C}$ -ルテイン、エキネノンあるいはカンタキサンチンを与えると、シンチアキサンチンは二つの新ケトカロチノイド即ち4-ケトシンチアキサンチンおよび4,4'-ジケトシンチアキサンチンへ転換するが、 $\beta$ -カロチンとゼアキサンチンはアスタキサンチンへ、ルテインはドラデキサンチンへ、エキネノンはカンタキサンチンへ転換することを見た。

なお $^{14}\text{C}$ -ゼアキサンチンによる吸収状態を見ると6時間後に早くも体表へ達し、そこでエステル化された後アスタキサンチンへ転換されることを見出した。

また金魚は成長のある段階で体色を赤く変えるが、その頃メラノフォアの崩壊が起りキサントファイルが減少し、同時にアスタキサンチンおよびドラデキサンチンの如きケトカロチノイドが増加してくることを明かにした。この体色変化にはホルモンによる調節がなされるものと考え、ACTH および抗甲状腺剤のフェニチオウレアを腹腔に注射して研究したところ、ACTH および甲状腺に直接調節されないことが認められた。

### 2. にじますカロチノイドの代謝

にじますのカロチノイドは主として体表と筋肉に蓄積するが、体表はエステル型、筋肉は遊離型で金魚と同様であった。カロチノイドではアスタキサンチンが最も多く、次でルテインおよびゼアキサンチンである。

$^{14}\text{C}$ - $\beta$ -カロチン、 $^{14}\text{C}$ -ルテインあるいは $^{14}\text{C}$ -ゼアキサンチンを与えると $\beta$ -カロチンおよびゼアキサンチンは金魚と異りアスタキサンチンへの転換がなくカロチンは大部分ビタミンAへ、ゼアキサンチンはそのまま各組織へ蓄積された。一方ルテインも金魚の時とは異りドラデキサンチンへの転換もなくそのまま各組織へ移行することが見出された。従ってにじますに多いアスタキサンチンは食餌中のアスタキサンチンに由来することが明かとなった。



以上のように本研究は水産養殖上重要な二種類の魚種についてそのカロチノイド代謝の過程を詳細に研究し、その間新たな知見をいくつか加えたことは水産化学および水産養殖学の基礎ならびに応用上に貢献するところが大きいと考えられる。よって審査員一同は著者が農学博士の学位を授与される充分の資格があると判定した。